

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN EKSTRAK METANOL
***Spirulina platensis* L. PADA SEL MCF-7**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Fakultas Farmasi**

Oleh:

ANNISAAULIYA

K 100 150 120

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2019**

HALAMAN PERSETUJUAN

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN EKSTRAK METANOL
Spirulina platensis L. PADA SEL MCF-7

PUBLIKASI ILMIAH

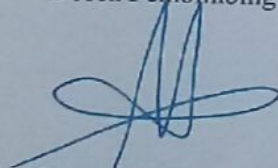
Oleh:

ANNISA AULIYA

K 100 150 120

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Maryati, Ph.D., Apt

NIK. 871

HALAMAN PENGESAHAN

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN EKSTRAK METANOL
***Spirulina platensis* L. PADA SEL MCF-7**

OLEH

ANNISA AULIYA

K 100 150 120

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Jum'at, 18 Januari 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

- | | |
|----------------------------------|---------|
| 1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt | (.....) |
| (Ketua Dewan Penguji) | |
| 2. Erindyah Retno W., Ph.D., Apt | (.....) |
| (Anggota I Dewan Penguji) | |
| 3. Maryati, Ph.D., Apt | (.....) |
| (Anggota II Dewan Penguji) | |

Dekan,



Azis Saifudin, Ph.D., Apt.

NIK. 956

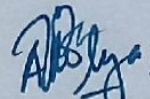
PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 14 Januari 2019

Penulis



ANNISA AULIYA

K 100 150 120

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN EKSTRAK METANOL

Spirulina platensis L. PADA SEL MCF-7

Annisa Auliya* dan Maryati
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta,
*E-mail: anniesaliya@gmail.com

Abstrak

Penyakit kanker payudara pada wanita di Indonesia semakin meningkat. Pengobatan kanker payudara seperti kemoterapi dan radiasi memiliki efek samping yang tidak diinginkan. Untuk mengatasi masalah tersebut, perlu dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai antikanker, salah satunya dengan alga spirulina (*Spirulina platensis* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L. terhadap sel MCF-7 serta mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya yang berpotensi sebagai antikanker payudara. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan metanol. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT assay dengan seri konsentrasi ekstrak 31,25; 62,5; 125; 250 dan 500 µg/mL. Absorbansi dibaca dengan ELISA reader pada 550 nm. Uji fitokimia ekstrak dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase gerak etil asetat dan heksan (7:3). Deteksi senyawa menggunakan pereaksi sitroborat, FeCl₃, vanilin-H₂SO₄ dan lieberman. Hasil uji sitotoksik menunjukkan ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L. tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol *Spirulina platensis* L. menunjukkan adanya pigmen β-karoten, senyawa golongan flavonoid, steroid dan terpenoid. Ekstrak metanol *Spirulina platensis* L. mengandung pigmen β-karoten dan klorofil-a, serta senyawa flavonoid, steroid, fenolik dan terpenoid.

Kata kunci: *Spirulina platensis* L., sel MCF-7, MTT-assay, sitotoksik.

Abstract

Breast cancer disease in women Indonesia increase. Breast cancer treatment such as chemotherapy and radiation have unwanted side effect. To resolve the issue, the need for exploration of natural materials as anticancer, one of them is spirulina algae (*Spirulina platensis* L.). This study aims to determine the cytotoxic effects of ethanol and methanol extract of *Spirulina platensis* L. on MCF-7 cells and find out the classes of compounds contained there in which are useful as anticancer breast. The extraction by the method of maceration with solvent ethanol 96% and methanol. Cytotoxic test by the MTT assay with extract concentration series 31,25; 62,5; 125; 250 and 500 µg/mL. The absorbance is read by the ELISA rreader at 550 nm. Phytochemicals test extract by Thin Layer Chromatography using ethyl acetate and hexane (7:3) as mobile phase. Detection using sitroborat, FeCl₃, vanilin and lieberman reagents. The cytotoxic test result showed that *Spirulina platensis* L. does not contain cytotoxic activity. Phytochemical test result of *Spirulina platensis* L. ethanol extract showed the presence of β-carotene and chlorophyll-a pigmen, flavonoids, steroids and terpenoids compounds. Methanol extract *Spirulina platensis* L. contains β-carotene and chlorophyll-a pigments, as well as the flavonoids, steroids, phenolics and terpenoids compounds.

Keywords: *Spirulina platensis* L., MCF-7 cells, MTT-assay, cytotoxic.

1. PENDAHULUAN

Berdasarkan data dari *American Cancer Society*, pada tahun 2017 di United States, kanker payudara dialami oleh 252.710 wanita dengan angka kematian sebesar 40.610 orang. Secara nasional prevalensi penyakit kanker payudara pada penduduk wanita di Indonesia tahun 2013 sebesar 0,5% atau diperkirakan sekitar 61.682 orang berdasarkan data riset kesehatan dasar (Kemenkes RI, 2016). Kanker payudara penyebab kematian terbesar kedua di Indonesia dengan presentase kasus kematian 21,4% (WHO, 2014).

Antikanker ideal adalah yang memiliki toksisitas selektif, artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal (Kurnijasanti *et al.*, 2008). Operasi, kemoterapi dan radioterapi merupakan terapi konvensional yang umum dilakukan untuk kanker payudara. Operasi tidak dapat mengangkat kanker seutuhnya. Kemoterapi dan radioterapi dapat merusak jaringan normal lain, sehingga jaringan yang sehat tidak dapat mentoleransi radiasi dan dosis obat harus dijaga pada level yang rendah serta memerlukan biaya yang besar (Vali *et al.*, 2015). Berdasarkan uraian di atas, eksplorasi bahan alam untuk pengobatan kanker payudara perlu dilakukan. Salah satu bahan alam yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker adalah alga *Spirulina platensis* L.

Alga spirulina adalah cyanobacterium mikro-organisme autotrof berwarna hijau-kebiruan mengandung fikosianin, karotenoid dan klorofil dengan kandungan tertinggi klorofil-a (Pirenantyo & Limantara, 2008). Fikosianin diketahui dapat menghambat pertumbuhan koloni kanker (Adams, 2005). Karotenoid jenis β -karoten berfungsi menghambat proliferasi sel dan menurunkan resiko kanker (Maleta *et al.*, 2018). Klorofil merupakan fotosensitizer potensial yang bertindak sebagai molekul interseptor dalam mencegah dan penyembuhan kanker seperti aktivitas antiproliferatif, antimutagen dan penginduksian apoptosis pada sel kanker (Himalogista, 2013).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi protein *Spirulina platensis* yang berasal dari air laut memiliki aktivitas antiproliferasi terkuat pada sel MCF-7, HepG-2 dan SGC-7901 dengan nilai IC_{50} <31,25; 36,42 dan 48,25 $\mu\text{g/mL}$ dengan persentase penghambatan hidrolisis enzimatis pada MCF-7 mencapai 93,43% (Wang and Zhang, 2016). Penelitian lainnya menyatakan bahwa ekstrak etanol *Spirulina platensis* menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 700,28 $\mu\text{g/mL}$ pada sel kanker payudara MDA-MB-231 (Mekjaruskul *et al.*, 2016). Ekstrak etanol alga laut *Glacilaria foliifera* dan *Cladophoropsis* sp. menunjukkan aktivitas sitotoksik in vitro pada sel kanker payudara MDA-MB-231, MCF-7 dan T47D dengan nilai IC_{50} secara berurutan sebesar 66,48; 150,86; >400 $\mu\text{g/mL}$ dan 74,89; 207,81; 203,25 $\mu\text{g/mL}$ (Erfani *et al.*, 2015). Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksik ekstrak etanol dan ekstrak metanol *Spirulina platensis* L. budidaya air tawar dari PT. Neoalga terhadap sel MCF-7.

2. METODE

2.1 Alat

Neraca analitik (Ohaus), bejana, *rotary evaporator* (Heidolph), *Waterbath* (Heidolph), peralatan gelas (Pyrex), inkubator CO₂ (Binder), *Cytotoxic Safety Cabinet* (ESCO), *Enzym-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA *reader*) (Elx800 Bio Tech), mikropipet (Socorex), vortex (Maxi Mix II), *hemocytometer* (Neubauer), mikroskop (Olympus), pipet *pasteur*, oven (Mettler), lemari asam, lampu UV 254 nm dan 366 nm.

2.2 Bahan

Alga spirulina (*Spirulina platensis* L.) hasil budidaya air tawar PT. Neoalga di daerah Sukoharjo, kultur sel MCF-7 yang diperoleh dari laboratorium LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) (Sigma), etanol 96% teknis, metanol teknis, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) (Merck), reagen MTT (Invitrogen), tripsin-EDTA (Sigma), *Phosphate Buffered Saline* (PBS) (Invitrogen), *Sodium Dodecylsulfate* (SDS) (Merck), 96-well plate (Iwaki), *conical tube*, *white tip*, *yellow tip*, *blue tip*, aluminium foil, kertas saring, silika gel GF₂₅₄, heksan p.a, etil asetat p.a, reagen sitroborat, FeCl₃, vanilin-H₂SO₄ dan lieberman.

2.3 Ekstraksi Alga Spirulina

Alga spirulina (*Spirulina platensis* L.) kering diperkecil ukurannya dengan diremas menggunakan tangan, lalu ditimbang sebanyak 250 gram, dimaserasi selama 3 x 24 jam dengan etanol 96% dan metanol sebanyak 1,9 L dibantu pengadukan pada suhu ruang. Hasil maserasi disaring menggunakan corong *buchner*, kemudian *solvent* diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

2.4 Kultur Sel MCF-7

Sel MCF-7 dikultur dalam media DMEM yang mengandung 10% FBS, 2% penisilin-streptomisin dan 1% fungizon. Perlakuan dilakukan di dalam *Cytotoxic Safety Cabinet*. Sel diinkubasi pada suhu 37°C di inkubator CO₂ dan disubkultur setiap 3-4 hari.

2.5 Panen Sel MCF-7

Pemanenan sel MCF-7 dilakukan dengan mengambil sel dari inkubator CO₂ dan kondisi sel diamati di bawah mikroskop hingga terlihat kondisi sel 80% konfluen. Media dibuang dengan pipet *pasteur* steril dan sel dicuci dengan PBS sebanyak 5 mL. Sel dilepaskan dari matriks dengan tripsin-EDTA sebanyak 450 µL, kemudian diinkubasi selama 5 menit. Untuk menginaktifkan tripsin ditambahkan media sebanyak 6 mL, sel diresuspensi hingga sel tidak menggerombol (terlepas satu-satu). Sel yang sudah lepas dipindahkan ke dalam *conical tube* steril. Perhitungan sel menggunakan 10 µL hasil

panen sel yang dipipetkan ke dalam *hemacytometer*, kemudian sel dihitung di bawah mikroskop dengan *counter*.

2.6 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol dan metanol alga spirulina masing-masing ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam DMSO 200 μ L dan media DMEM 800 μ L dengan bantuan vortex. Seri konsentrasi larutan uji dibuat dengan konsentrasi ekstrak 31,25; 62,5; 125; 250 dan 500 μ g/mL dengan penambahan media DMEM.

2.7 Uji Sitotoksik

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode MTT *assay*. Sel dikultur pada 96-*well plate* (100 μ L untuk setiap sumuran) dengan kepadatan sel 5×10^3 . Diinkubasi selama 24 jam, selanjutnya sel diberi perlakuan dengan menambahkan seri konsentrasi ekstrak (31,25; 62,5; 125; 250 dan 500 μ g/mL) pada tiga sumuran setiap konsentrainya (triplo) dengan volume 100 μ L, kontrol pelarut diisi DMSO, kemudian diinkubasi selama 48 jam. Media dibuang dengan cara membalikkan *plate* 180° di atas tempat pembuangan dan ditiriskan sisa media sel di atas tisu. Pada setiap sumuran ditambahkan reagen MTT dalam PBS 5 mg/mL sebanyak 100 μ L dan diinkubasi selama 2-4 jam pada suhu 37°C. Kondisi sel diamati menggunakan mikroskop, jika telah terbentuk kristal formazan ditambahkan *stopper* 100 μ L SDS 10% dalam HCl 0,01 N pada setiap sumuran. 96-*well plate* dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan di dalam lemari kedap cahaya pada suhu kamar selama semalam. Absorbansi diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm.

2.8 Analisis Data Uji Sitotoksik

Data yang diperoleh dari metode MTT *assay* berupa absorbansi yang dapat digunakan untuk menghitung nilai persentase jumlah sel hidup. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukkan nilai probit 50% sel hidup pada persamaan regresi linier ($y = bx + a$). Persentase sel hidup dihitung dengan rumus:

$$\text{Sel hidup (\%)} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100$$

2.9 Analisis Kandungan Senyawa

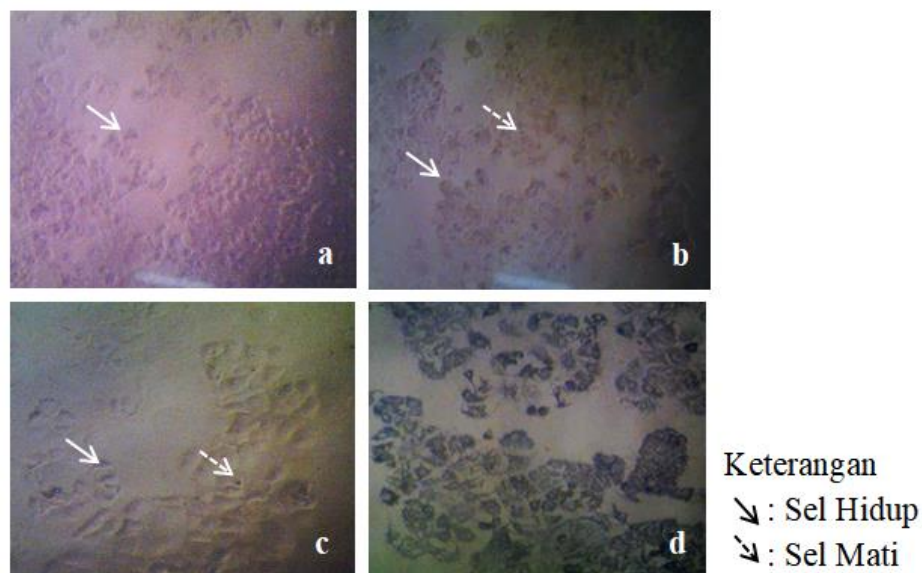
Ekstrak etanol dan metanol alga spirulina ditotolkan pada plat silika gel GF₂₅₄. Etil asetat dan heksan digunakan sebagai fase gerak dengan perbandingan 7:3. Plat KLT disemprot dengan pereaksi FeCl₃, vanilin-H₂SO₄ yang diamati pada sinar tampak dan sitroborat, lieberman diamati pada UV 366 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Uji Aktivitas Sitotoksik

Ekstraksi alga spirulina dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Menurut Alamgir (2017) metode maserasi adalah metode paling mudah dan sederhana untuk menarik senyawa yang terkandung dalam simplisia. Hasil rendemen yang diperoleh untuk ekstrak etanol dan metanol alga spirulina masing-masing sebesar 2,36% dan 5,98% dengan warna ekstrak coklat-kehijauan dan hijau pekat serta berbau amis.

Uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L. pada sel MCF-7 dilakukan dengan metode MTT assay. Prinsip metode MTT assay adalah pengukuran kristal formazan yang terbentuk akibat reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) difenil tetrazolium bromid) oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium yang terdapat dalam mitokondria sel hidup (Cancer Chemoprevention Research Center, 2009). Reaksi tersebut menghasilkan terbentuknya kristal formazan berwarna ungu yang absorbansinya dibaca dengan ELISA reader (Doyle and Griffiths, 2000). Intensitas warna ungu yang terbentuk linier dengan jumlah sel hidup, jika warna ungu yang dihasilkan pekat maka absorbansi yang dihasilkan semakin besar karena jumlah sel kanker yang hidup masih banyak.



Gambar 1. Morfologi sel MCF-7 Hari Ke-5 pada kontrol sel (a), setelah perlakuan ekstrak etanol *Spirulina platensis* L. 500 µg/mL (b), setelah perlakuan ekstrak metanol *Spirulina platensis* L. 500 µg/mL (c) dan setelah diberi perlakuan reagen MTT (d).

Morfologi sel MCF-7 (Gambar 1a) pada sel kontrol berbentuk pipih. Beberapa sel mengalami kematian setelah diberi perlakuan ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L. 500 µg/mL (Gambar 1b, Gambar 1c). Sel mati akan berbentuk pipih ditandai warna hitam pada inti sel, tidak beraturan dan memiliki kepadatan rendah (Djajanegara and Wahyudi, 2009). Sel MCF-7 yang

mengalami kematian hanya sedikit, terlihat dari inti sel kanker MCF-7 yang berubah menjadi warna hitam belum terlalu banyak dan kristal formazan yang terbentuk berwarna ungu pekat (Gambar 1d).

Tabel 1. Persentase sel hidup MCF-7 setelah diberi ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L.

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Sel Hidup				
		1	2	3	Rata-rata	\pm SD
Ekstrak Etanol	31,25	110,693	115,392	115,959	114,014	2,89
	62,5	105,055	102,800	104,116	103,990	1,13
	125	93,591	93,028	104,116	96,912	6,24
	250	85,134	91,900	107,687	94,907	11,57
	500	89,833	94,719	91,336	91,963	2,50
Ekstrak Metanol	31,25	128,547	112,385	111,633	117,522	9,56
	62,5	123,849	92,840	93,216	103,301	17,79
	125	114,264	90,021	85,510	96,598	15,46
	250	100,921	94,907	92,652	96,160	4,27
	500	99,229	94,155	87,953	93,779	5,65

Aktivitas penghambatan sel MCF-7 dari ekstrak etanol alga spirulina lebih baik dibandingkan ekstrak metanolnya. Pada Tabel 1 terlihat bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tidak menyebabkan penurunan persentase sel hidup yang signifikan. Pada konsentrasi tertinggi (500 $\mu\text{g/mL}$) persentase sel hidup ekstrak etanol sebesar 91,96% atau persentase penghambatan sel hanya 8,04%. Sedangkan pada ekstrak metanol persentase sel hidup sebesar 93,78% dengan persentase penghambatan sel sebesar 6,22%. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L. tidak memiliki aktivitas sitotoksik, sehingga tidak dilanjutkan perhitungan nilai IC_{50} .

Senyawa yang bertanggungjawab dalam aktivitas sitotoksik alga spirulina adalah pigmen β -karoten (Britton *et al.*, 1995) yang merupakan senyawa golongan terpenoid (Endarini, 2016). Berdasarkan uji kandungan senyawa ekstrak etanol dan metanol alga spirulina positif mengandung pigmen β -karoten dan senyawa golongan terpenoid (Tabel 2, Tabel 3). Mekanisme β -karoten dalam menghambat sel kanker adalah dengan membantu merangsang kelenjar *thymus* untuk memproduksi lebih banyak sel limfosit yang dapat langsung menghancurkan sel kanker (Britton *et al.*, 1995). Pigmen β -karoten yang tersari pada ekstrak etanol dan metanol alga spirulina diduga dalam konsentrasi yang kecil sehingga ekstrak tidak memiliki aktivitas sitotoksik.

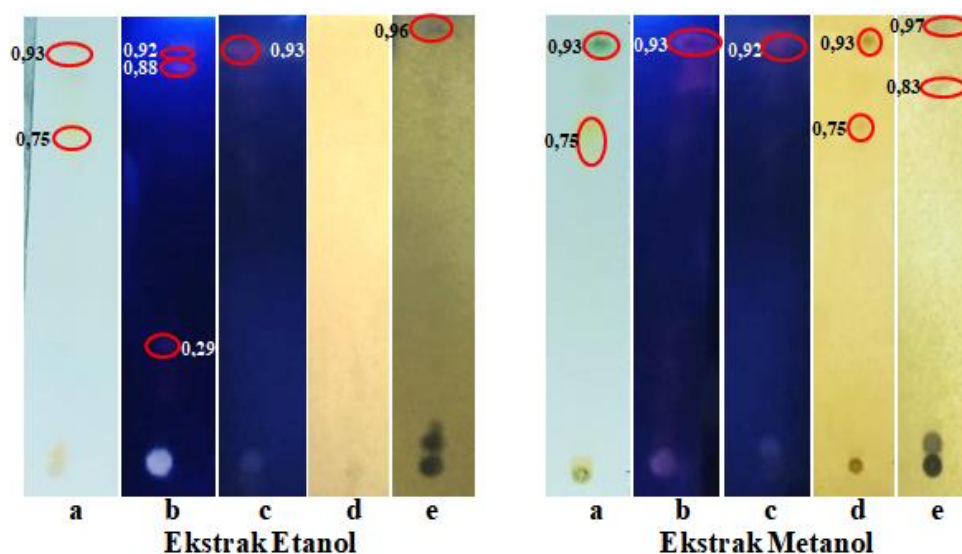
Penelitian lain menyebutkan bahwa fraksi protein oleh *Spirulina platensis* yang berasal dari air laut memiliki aktivitas antiproliferasi pada sel MCF-7 dengan penghambatan hidrolisis enzimatis sebesar 93,43% pada nilai $\text{IC}_{50} < 31,25 \mu\text{g/mL}$ (Wang and Zhang, 2016). Hasil penelitian Mekjaruskul *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Spirulina platensis* menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 700,28 $\mu\text{g/mL}$ pada sel kanker payudara MDA-MB-231. Penelitian Erfani *et al.*, (2015)

menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol alga laut *Gracilaria foliifera* dan *Cladophoropsis* sp. terhadap sel MCF-7 masing-masing sebesar 207,81 dan 150,86 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi pada 50% sel dapat dihambat aktivitas pertumbuhannya. Semakin tinggi nilai IC_{50} menunjukkan rendahnya aktivitas sitotoksik sampel yang diujikan.

Perbedaan hasil pada penelitian ini dengan penelitian lainnya dapat disebabkan karena perbedaan asal atau sumber diperolehnya alga spirulina sehingga jumlah metabolit sekunder yang terkandung juga berbeda (Endarini, 2016). Selain itu, dapat juga disebabkan karena perbedaan pelarut dan metode ekstraksi, sehingga senyawa yang terkandung tidak semua terlarut dalam proses ekstraksi (Kar, 2007). Berdasarkan hasil penelitian ini, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan fraksi protein ekstrak alga spirulina budidaya air tawar terhadap sel MCF-7 dan sel kanker lainnya seperti kanker kolon (WiDr) dan kanker serviks (HeLa).

3.2 Analisis Kandungan Senyawa

Uji kandungan senyawa dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat mengidentifikasi senyawa murni sekaligus memisahkannya (Baharum *et al.*, 2016). Hasil uji KLT ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* tersaji pada Gambar 2, Tabel 2 dan Tabel 3. Pemisahan ekstrak etanol dan metanol alga spirulina dengan metode KLT menghasilkan bercak warna kuning-oranye yang mengandung pigmen β -karoten dan warna hijau mengandung klorofil-a (Britton *et al.*, 1995). Pigmen β -karoten dan klorofil-a yang terkandung dalam alga spirulina berfungsi menghambat metastasis sel kanker (Pirenantyo *et al.*, 2008).



Gambar 2. Kromatogram ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L. dengan fase gerak etil asetat : heksan (7:3) dengan deteksi pada sinar tampak (a), sitroborat (b), Lieberman (c), FeCl_3 (d), Vanilin H_2SO_4 (e).

Tabel 2. Hasil Deteksi Senyawa Ekstrak Etanol *Spirulina platensis* L.

Rf	Deteksi					Senyawa
	Sinar Tampak	Sitroborat	Lieberman	FeCl ₃	Vanilin-H ₂ SO ₄	
0,29	-	Hijau	-	-	-	Flavonoid
0,75	Kuning-orange	-	-	-	-	Pigmen β-Karoten
0,88	-	Hijau	-	-	-	Flavonoid
0,92	-	Hijau	-	-	-	Flavonoid
0,93	Kuning	-	Ungu	-	-	Pigmen β-Karoten
						Steroid
0,96	-	-	-	-	Hitam	Terpenoid

Tabel 3. Hasil Deteksi Senyawa Ekstrak Metanol *Spirulina platensis* L.

Rf	Deteksi					Senyawa
	Sinar Tampak	Sitroborat	Lieberman	FeCl ₃	Vanilin-H ₂ SO ₄	
0,75	Kuning-orange	-	-	Hitam	-	Pigmen β-Karoten
						Fenolik
0,83	-	-	-	-	Hitam	Terpenoid
0,92	-	-	Ungu	-	-	Steroid
0,93	Hijau	Hijau	-	Hitam	-	Pigmen Klorofil-a
						Flavonoid
						Fenolik
0,97	-	-	-	-	Hitam	Terpenoid

Deteksi kandungan flavonoid ditandai dengan fluoresensi bercak di bawah UV 366 nm setelah disemprot pereaksi sitroborat. Komponen utama reagen sitroborat adalah H₃BO₃ yang dapat membentuk kompleks khelat dengan gugus orto dihidroksi dan orto hidroksi karbonil sehingga intensitas fluoresensi bercak di bawah sinar UV 366 nm lebih jelas. Flavonoid memiliki ikatan dengan gugus gula yang menyebabkan flavonoid bersifat polar namun aglikonnya bersifat non polar sehingga mudah terlarut dalam senyawa non polar atau semi polar seperti heksan sehingga bercak yang terelusi fase gerak dapat terdeteksi oleh pereaksi sitroborat (Kristanti *et al.*, 2008).

Hasil KLT berfluoresensi ungu di bawah sinar UV 366 nm setelah disemprot pereaksi Lieberman-Burchard. Uji KLT golongan senyawa steroid dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan terbentuknya bercak berwarna hitam, biru ungu hingga coklat setelah dideteksi di bawah lampu UV 366 nm (Kristanti *et al.*, 2008). Struktur steroid memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang mampu berfluoresensi dengan ditunjukkan noda berwarna, terjadi interaksi antara sinar UV dan gugus kromofor yang terikat pada gugus aoksokrom yang menyebabkan pergeseran panjang gelombang batokromik (pergeseran serapan maksimum ke panjang gelombang yang lebih besar) sehingga noda berwarna dan tampak oleh mata (Harborne, 1973).

Uji KLT menghasilkan bercak berwarna hitam pada sinar tampak setelah disemprot pereaksi vanilin-H₂SO₄. Vanilin-H₂SO₄ mengabstraksi atom H pada ikatan C-C senyawa organik sehingga membentuk ikatan rangkap dua (C=C). Ikatan rangkap terkonjugasi akan menjadi lebih panjang dan dapat menyerap sinar pada panjang gelombang visible (Saifudin, 2014). FeCl₃ merupakan pereaksi untuk deteksi senyawa fenolik. Uji KLT setelah disemprot pereaksi FeCl₃ menghasilkan bercak berwarna hitam pada sinar tampak. Hasil positif mengandung senyawa fenolik ditunjukkan dengan

perubahan warna bercak menjadi merah, hijau, ungu, biru atau hitam kuat di bawah sinar tampak. Perubahan warna terjadi akibat terbentuknya kompleks ion Fe^{3+} dengan gugus $-\text{OH}$ dari senyawa fenol (Harborne, 1973).

Penelitian lain menyatakan bahwa hasil uji KLT dengan fase gerak n-heksan dan aseton (75:25) pada *Spirulina platensis* L. mengandung β -karoten, klorofil-a, klorofil-b, klorofil-c, violaxantin dan senyawa fenolik (Laguna *et al.*, 2015). Hasil skrining fitokimia *S. platensis* menunjukkan adanya senyawa terpenoid, glikosida dan saponin (Sudha *et al.*, 2011). Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak metanol alga spirulina mengandung pigmen β -karoten dan klorofil-a serta senyawa flavonoid, fenolik, terpenoid dan steroid tidak memiliki aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7. Hal ini diduga karena konsentrasi pigmen dan golongan senyawa sangat kecil dalam alga spirulina atau jenis senyawa yang terkandung tidak bersifat sitotoksik.

4. PENUTUP

4.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan metanol *Spirulina platensis* L. tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7. Ekstrak etanol *Spirulina platensis* L. mengandung pigmen β -karoten, senyawa flavonoid, steroid dan terpenoid. Ekstrak metanol *Spirulina platensis* L. mengandung pigmen β -karoten dan klorofil-a, senyawa flavonoid, steroid, fenolik dan terpenoid.

PERSANTUNAN

Ucapan terimakasih kepada PT. Neoalga yang telah membantu dalam menyediakan alga spirulina pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M. (2005). *Superfood for optimum health: Chlorella and Spirulina*. New York: Truth Publishing International, Ltd.
- Alamgir, A. N. (2017). *Therapeutic Use of Medicinal Plants and Their Extracts* (1st ed.). Switzerland: Springer. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(05\)01189-2](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(05)01189-2).
- Baharum, Z., Alkim, A., Hin, T. Y., Hamid, R., & Kasran, R. (2016). Review of the Extraction, Isolation, and Bioassay of Its Potential Anti-cancer Compounds. *Tropical Life Sciences Research*, 27(1), 21–42. <https://doi.org/10.1097/00000637-198110000-00016>.
- Britton, G., Liaaen-Jensen, S., & Pfander, H. (1995). Carotenoids Volume IA: Isolation and Analysis (p. 811). Basel Boston, Berlin: Birkhauser Verlag.
- Cancer Chemoprevention Research Center. (2009). Prosedur tetap. *Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM Yogyakarta*, 6–9.

<https://doi.org/10.1109/ICSMC.2011.6084006>.

- Djajanegara, I., & Wahyudi, P. (2009). Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(1), 7–11.
- Doyle, A., & Griffiths, J. B. (2000). *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York: John Wiley and Sons Ltd.
- Endarini, L. H. (2016). *Farmakognisi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.
- Erfani, N., Nazemosadat, Z., & Moein, M. (2015). *Cytotoxic activity of ten algae from the Persian Gulf and Oman. Pharmacognosy Research* (Vol. 7). <https://doi.org/10.4103/0974-8490.150539>
- Harborne, J. B. (1973). *Phytochemical Methods*. London: Chapman And Hall.
- Himalogista. (2013). Mengenal Jenis Pigmen Alami Dan Manfaatnya. Diakses 23 Januari 2019, Terdapat di: <http://himalogista.ub.ac.id/mengenal-jenis-pigmen-alami-dan-manfaatnya/>
- Kar, A. (2007). *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology* (Seconds). New Delhi: New Age International (P) Limited.
- Kemenkes RI. (2016). Info DATIN Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. *Indonesia*.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kurnijasanti, R., Hamid, I. S., & Rahmawati, K. (2008). Efek Sitotoksik In Vitro Dari Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. *Jurnal Penelitian Media Eksakta*, 7(1), 48–54. <https://doi.org/10.1002/2013JD021272>.Received
- Laguna, H. B. de, Marante, F., & Mioso, R. (2015). Extraction of Nutraceuticals from Spirulina (Blue-Green Alga): A Bioorganic Chemistry Practice Using Thin-Layer Chromatography. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 43(5), 366–369.
- Maleta, H. S., Indrawati, R., Limantara, L., Hardo, T., & Brotosudarmo, P. (2018). Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir (Telaah Literatur). *Jurnal Rekayasa Kimia Dan Lingkungan*, 13(1), 40–50.
- Mekjaruskul, C., Fangkrathok, N., & Sripandikulchai, B. (2016). Antioxidative and anticancer activities of selected microalgae extracts isolated from east coast of Thailand. *International Conference on Natural Porducts for Helath and Beauty (NATPRO6)*. Khan Kaen University.
- Pirenantyo, P., & Limantara, L. (2008). Pigmen Spirulina sebagai Senyawa Antikanker. *Indonesian Journal of Cancer*, 4, 155–163.
- Saifudin, A. (2014). *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sudha, S. S., Karthic, R., Naveen, & Rengaramanujam, J. (2011). Anti hyperlipidemic activity of Spirulina platensis in Triton x-100 induced hyperlipidemic rats. *Hygeia Journal For Drugs and Medicines*, 3(2), 32–37.
- Vali, F., Changizi, V., & Safa, M. (2015). Synergistic Apoptotic Effect of Crocin and Paclitaxel or Crocin and Radiation on MCF-7 Cells, a Type of Breast Cancer Cell Line. *International Journal of Breast Cancer*. <https://doi.org/10.1155/2015/139349>.
- Wang, Z., & Zhang, X. (2016). Isolation and identification of anti-proliferative peptides from Spirulina platensis using three-step hydrolysis. *Sci Food Agric*, (Desember 2015). <https://doi.org/10.1002/jsfa.7815>.